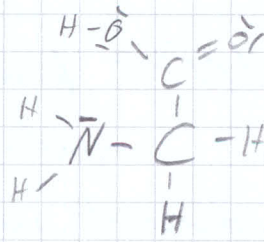


IA - Schrader SS-6

1. Glycin



a) UV-Vis-Spektroskopie

Die WW basieren auf elektronischen Übergängen in den Molekülorbitalen, meist von  $\pi \rightarrow \pi^*$  oder auch von freien Elektronenpaaren. Außerdem treten auch Rotationen und Schwingungen auf.

Signale könnten sowohl im UV- als auch im Vis-Bereich auftreten. Im Vis-Bereich sind aber die Signalstärke nicht ausreichend, da dazu mehr DB vorhanden sein müssten, darüber hinaus mehr substituierte aromatische Systeme oder substituierte konjugierte Systeme.

Im UV-Bereich könnten eher detektierbare Signale auftreten, aufgrund der freien EP's und der Carbonylgruppe.

IR-Spektroskopie

Bei der IR-Spektroskopie treten Konformationsänderungen, von einer idealen zu einer energetisch ungünstigen/hohen Konformation, auf. Diese Übergänge sind gekoppelt. Voraussetzung ist ein permanentes oder induziertes Dipolmoment, aufgrund asymmetrischer Schwingungen. Glycin dürfte mit IR sehr gut detektierbar sein, aufgrund der Carboxyl- und Amidgruppe.

## - H-NMR

Die Strahlung beider  $^1\text{H-NMR}$  führt dazu, dass Kernspins von Atomen mit ungerader Zahl an Neutronen und Protonen angeregt werden und die Relaxation defizient werden kann.

Starke Signale werden von der Carboxyl- und Amidgruppe kommen aber auch von den beiden alpha- $\text{H}$ -Protonen.

- b<sub>1</sub> • UV-Vis  $\rightarrow$  wässrige Lösung
- IR  $\rightarrow$  wässrig oder fest
- H-NMR  $\rightarrow$  wässrig (deuteriert!)

UV-Vis Spektroskopie ist mit wässrigen und niedrigkonzentrierten Lösungen am einfachsten durchzuführen, da die Bestimmung auf Basis des Lambert-Beer-Gesetzes erfolgt, das die Transmission von Strahlung durch eine flüssige Probe beschreibt.

Die IR-Spektroskopie eignet sich für feste Proben, da diese z.B. direkt in der KBr-Pressung eingepreßt werden können und somit die Bestimmung einfach erfolgen kann.

Die  $^1\text{H-NMR}$  verlangt zwar auch nach wässrigen Proben, aber hier muss viel mehr auf das richtige Lösungsmittel (deuteriert) geachtet werden.

c, Die UV-Fluoreszenztechnik empfiehlt sich aus Kostengründen. Die Geräte sind nicht allzu teuer und auch die Quarzküvetten sollten das Budget nicht sprengen. Außerdem kann man mit einfachen Lösungsmitteln ( $H_2O$ ) arbeiten, was zusätzlich zu Kosteneinsparungen beiträgt.

2. a, Der Ionisierungsprozess mit MALDI-TOF funktioniert folgendermaßen:

- Die kristallisierte Matrix mit angehefteter Probe wird mit einem kurzen Laserimpuls beschossen
- Vor allem die Matrixmoleküle relaxieren
- Es erfolgt eine explosionsartige Freisetzung von Matrixmolekülen (+ Probe) vor dem Erreichen eines thermischen Gleichgewichts
- Vermutlich protonieren photoionisierte, radikalische Matrixmoleküle die Probenmoleküle
- Ab in die Beschleunigungsstrecke

Rolle der Matrix:

- Fixiert Probe
- Ionisiert Probenmoleküle
- erlaubt die Freisetzung nach Beschuss

Rolle des Lasers:

- stellt die Freisetzungenergie bereit
- erlaubt Dosisierung der freigesetzten Moleküle

Da die nachfolgende Beschleunigung in einem elektrischen Feld stattfindet, können nur geladene Teilchen (= Ionen) beschleunigt werden.

Keine Ionen, keine Beschleunigung, keine Messung.

Große für große Biopolymere ist die Ionisation kritisch, da die Laserenergie zu Bindungsbrüchen und damit zu Fragmentierung führen kann.

b) Ein TOF-Massenspektrometer besteht aus einem langen Flugrohr (ca. 1,85m). Die Länge ist so zu wählen, dass sie geringer als die mittlere freie Weglänge der Probenmoleküle ist.

Entscheidend dafür ist ein sehr gutes Vakuum im Flugrohr. Nach der anfänglichen Beschleunigungsstrecke fliegen die Ionen also durch einen feldfreien, volumensierten Raum (= Flugrohr).

Um das  $\frac{m}{z}$ -Verhältnis der Probenionen bestimmen zu können, benutzt man folgenden Zusammenhang.

$$E_{kin} = e \cdot U \cdot z = \frac{m}{z} \cdot v^2$$

$$\Rightarrow \frac{m}{z} = \frac{z \cdot e \cdot U}{v^2} = \frac{z \cdot e \cdot U \cdot t^2}{L^2} = K \cdot t^2$$

Wie der Name TOF schon besagt, erfolgt die Bestimmung  $\frac{m}{z}$  über die time-of-flight (=t)

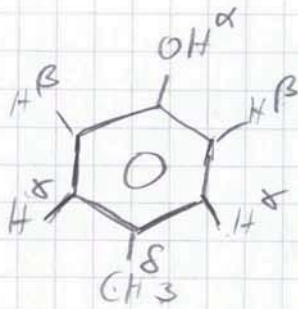
3, Hauptziel der Qualitätssicherung

Zuverlässigkeit der Analyseergebnisse

Maßnahmen/Auflagen laut GLP

- Standard Operating Procedures (SOP's)
- ⊕ Nachvollziehbarkeit des Prozesses
- ⊕ Reproduzierbarkeit —"—

41



$\delta$  [ppm]

$\alpha$ : aromatisches Hydroxylproton: 4,5 - 7,8 1H ✓

$\beta, \gamma$ : aromatische Protonen: 2,5 - 3,2 4H

→ wobei man vermuten kann, dass  $\beta$  bei höherem Feld kommt als  $\gamma$ , wegen dem  $e^-$ -ziehenden Effekt der Hydroxylgruppe

$\delta$ : aromatisches Methylproton: 2,2 - 2,6  $\frac{3\text{H}}{8\text{H}}$

Für die  $\beta/\gamma$ -Protonen können Multipletts erwartet werden, da die jeweils ein  $\beta$ -Proton mit einem  $\gamma$ -Proton untereinander koppelt und somit Dupletts entstehen können.

b.  $\nu_{\text{ges}} = 1600$

